

Aus dem Institut für Anatomie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. med. H.-J. Merker)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DES GLASKÖRPERS
DES PFERDES

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Zahnärztin Annemarie John, geb. Albert
aus Hildburghausen

1977

Aus dem Institut für Anatomie der Freien Universität Berlin
(Leiter: Professor Dr. med. H.-J. Merker)

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN DES GLASKÖRPERS
DES PFERDES

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin



vorgelegt von

Zahnärztin Annemarie John, geb. Albert
aus Hildburghausen

Referent: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

Korreferent: Prof. Dr. med. dent. Hans Lenz

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Zahn-, Mund-
und Kieferheilkunde der Freien Universität Berlin



Promoviert am: 17.5.1977

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. Einleitung	4
II. Material und Methoden	8
III. Befunde	9
IV. Diskussion	21
V. Zusammenfassung	27
VI. Literaturverzeichnis	29

I. EINLEITUNG

Der Glaskörper beim Pferd besteht aus einer durchsichtigen, relativ festen Galertkugel, die den Raum zwischen Linse und Retina ausfüllt. Nach DUKE-ELDER (1929) ist der Wassergehalt des Corpus vitreum beim Pferd 99,6813 g%, die Trockensubstanz ist sehr gering, sie beträgt 1,1087 g%. Bei diesem hohen Wassergehalt kommt es bei den meisten Fixierungen alter Art zu schweren Schrumpfungen und Artefakten. Die im Glaskörper vorhandenen Strukturen werden dadurch so stark verändert, daß man kein richtiges Bild erhält.

Untersucht man frisches Glaskörpermateriale aber mit dem Immersionsultramikroskop, wie es BAURMANN (1922) getan hat, so stellen sich fädige Strukturen dar, die wegen der Lichtbeugung aber nur ein indirektes Bild der vorhandenen Strukturen wiedergeben. Man erkennt ein feines, aus verzweigten Fibrillen bestehendes Gitterwerk, das peripher zu einer membranartigen Rindenschicht verdichtet ist (GRIGNOLO, 1953). Mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops konnte SCHWARZ (1956) ebenfalls feinste, fädige Strukturen im frischen Glaskörper erkennen.

Zur genaueren Analyse der Fibrillen wurden in der Bindegewebforschung durch Homogenisieren und Zerschallen von Gefrierschnitten die Kollagenfibrillen "ausein-

andergezupft". Durch anschließendes Waschen konnten diese Fibrillen rein dargestellt (WOLPERS, 1943) und im Elektronenmikroskop betrachtet werden. Diese Methode wurde von SCHWARZ (1950) übernommen (SCHWARZ u. RUSKA, 1950; RUSKA, 1950; SCHUCHARD u. KNOCH, 1950; SCHWARZ, 1951; GRIGNOLO, 1953). Im Elektronenmikroskop stellen die Fibrillen sich als lange, unverzweigte Fäden dar, mit einem Durchmesser von 100-120 Å und einer Periodizität von 120 Å (SCHWARZ, 1961). Kleinwinkelröntgeninterferenzuntersuchungen haben bei den meisten Bindegewebsfibrillen eine Periode von 640 Å ergeben. Bei der Kleinwinkelröntgeninterferenz treten aber noch andere starke Reflexe auf, so zum Beispiel bei 128,3, die ungefähr der elektronenmikroskopischen Messung von 120 Å entsprechen. Die chemische Analyse mittels Papierchromatographie bestätigt ebenfalls die kollagene Natur dieser Fibrillen (PIRIE, SCHMIDT u. WATERS, 1948; NECKEL, 1953; GROSS, MATOLSTY u. COHEN, 1955).

Aufgrund des 99%igen Wassergehaltes konnte SCHWARZ (1961) in ca. 3µ dicken Schnitten, die nach Gefrier-trocknung gut durchstrahlbar waren, neben den Fibrillen noch eine amorphe Masse darstellen, die wahrscheinlich im wesentlichen die Hyaluronsäure war. Später konnte der Glaskörper nach Fixation und Schneiden mit dem Ultratom systematisch in Dünnschnitte zerlegt werden, die nur 30µ dick waren und deshalb im Elektronenmikroskop durchstrahlbar waren (GÄRTNER, 1962, 1965, 1967). SCHWARZ hatte beim menschlichen Glaskörper erfolgreich die Topogra-

phie der Gelkörperfibrillen gezeigt. An formalinfixiertem Material betrug die durchschnittliche Fibrillendicke ca. 66 Å, an Gefrierschnitten ca. 100 Å. Die durchschnittliche Periodizität dieser Fibrillen betrug 120 Å (SCHWARZ, 1961). BLACKSTAD und MEGGE (1961) bestätigen diese Ergebnisse mit der "negativ-Staining"-Methode.

Die zweite Hauptkomponente im Corpus vitreum ist die Hyaluronsäure, die MEYER und PALMER 1934 aus dem Glaskörper des Rindes isolierten. Sie ist ein Mucopolysaccharid und zeichnet sich durch ein hohes Wasserbindungsvermögen aus. Von ihrer Polymerisationsstufe hängt die Transparenz und die Viskosität des Glaskörpers ab. (MEYER, SMITH u. GALLARDO, 1936) Ein Hyaluronsäuremolekül besteht aus einer linearen, unverzweigten, flexiblen Polysaccharidkette, die in Lösung die Form eines ungeordneten Knäuels annimmt. (LAURENT und GERGELY, 1955). Durch bakterielle und enzymatische Spaltung wurden 1954 die kleinsten Bausteine, die Disaccharide, isoliert (WEISSMANN, MEYER, SAMPSON und LINKER, 1954). Das Hyaluronsäuremolekül besteht aus alternierenden Einheiten von D-Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin in glycosidischer Bindung. Wegen der unterschiedlichen Polymerisationsstufen der Hyaluronsäure ist es schwierig, Größe, Aussehen und Molekulargewicht der Hyaluronsäure im Glaskörper zu bestimmen. Je nach Herkunft des Untersuchungsmaterials, Dispersion, Polymerisation und Versuchsanordnung kamen verschiedene Autoren zu unterschiedlichen

Ergebnissen (LAURENT, 1957; BALAZS und JEANLOZ, 1965; BALAZS, 1958; BLUMBERG und OGSTON, 1958; ROGERS, 1960). LAURENT schätzt den Anteil von Hyaluronsäure im Glaskörper des Rindes auf 0,05% mit einem Molekulargewicht von $7,7 \cdot 10^4$ bis $1,7 \cdot 10^6$ (1955-1970).

Histologisch und elektronenmikroskopisch bereitete das Erfassen von Hyaluronsäure große Schwierigkeiten. Bei der Untersuchung aber eines gefriergetrockneten Glaskörperschnittes mit dem Elektronenmikroskop erkennt SCHWARZ (1956, 1961; HANSEN, 1969) zwischen dem Fibrillengerüst eine feine granuläre Substanz. Diese granulären Elemente zeigen eine auffallende Ähnlichkeit mit den granulären Elementen in einem gefriergetrockneten Schnitt durch hochvisköse Hyaluronsäure. SCHWARZ vermutete, daß es sich bei diesen Gebilden um Hyaluronsäure handelt. Der Beweis ist ihm 1976 gelungen. Mit Hilfe der Anfärbung mit Rutheniumrot nach Luft (1971) konnte er die Hyaluronsäure und die Fibrillen im Pars centralis des Corpus vitreum des Rindes gleichzeitig darstellen. Es stellte sich hierbei heraus, daß sich die Hyaluronsäure zwischen den Fibrillen in einem niedrigen Polymerisationszustand befindet. Die einzelnen Makromoleküle haben einen Durchmesser von $80 \text{ \AA}$. Gleichzeitig sind hochpolymerisierte Hyaluronsäuremoleküle zu erkennen, die die Fibrillen in Form von Girlanden umrunden.

In der vorliegenden Arbeit soll der Glaskörper des Pferdes mit Hilfe von Rutheniumrot und Osmiumsäure elek-

tronenmikroskopisch untersucht werden. Es sollen nach Möglichkeit die Zellen an der Oberfläche des Glaskörpers, die für die Produktion von Kollagen und Hyaluronsäure verantwortlich sind, die Rindenschicht und die Pars centralis des Glaskörpers untersucht werden.

II. MATERIAL UND METHODEN

Die Augen von drei acht Jahre alten Pferden wurden sofort nach dem Schlachten entfernt, ihr Glaskörper herauspräpariert und wie folgt behandelt.

Die Glaskörper wurden in toto in einer 1,4%igen Glutaraldehydlösung, die 1,500 ppm Rutheniumrot enthielt, fixiert, anschließend mit 0,1 M Cacodylatpufferlösung mit 800 ppm Rutheniumrotzusatz ausgewaschen. Es folgte eine erneute Fixierung mit 2%iger Osmiumsäure mit 400 ppm Rutheniumrotzusatz bei 4° C und Waschen in 0,9%iger Kochsalzlösung.

Zur Herstellung entsprechender Objektgrößen für das Dünnschnittmikrotom wurden die Glaskörper in der kalten Fixierlösung entsprechend geteilt. Nach Entwässerung in der Acetonreihe und nach Durchlaufen einer aufsteigenden Aceton-Mikropalreihe, wurden die Teilstücke in Mikropal, einem Kunstharzgemisch der Firma FERAK, Berlin, eingebettet.

Von den so erhaltenen Objektstücken wurden Dünnschnitte von durchschnittlich 500 Å Dicke mit dem LKB

Ultratom angefertigt, teilweise im Serienschnittverfahren. Dadurch war eine relativ gute Durchstufung der Objekte gewährleistet.

Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden am SIEMENS-Elmiskop Ia bei einer Strahlspannung von 80 KV gemacht. Die Primärvergrößerung beträgt 10.000-40.000 bei einer Blendenbohrung von 200/50 μ .

Zur Beurteilung der Aufnahmen, vor allem zur Gesamtbetrachtung und zur genauen Messung der Einzelheiten, wurden Positivabzüge in 3,5facher Vergrößerung hergestellt.

III. BEFUNDE

Am Glaskörper unterscheidet man zwischen der Glaskörperrinde, die relativ dünn ist und beim Eulenaffen 100 μ dick ist (BALAZS, 1968) und dem zentralen Teil des Corpus vitreum, der aber die Hauptmasse ausmacht. Außerhalb der Rinde befinden sich die Glaskörperzellen, deren Fortsätze auch in die Rinde hineinreichen. (Abb. 1)

In Unseren Präparaten waren fast nur Querschnitte von Fortsätzen der Hyalocyten zu sehen. Ihre Größe lag zwischen 100m μ und 2 μ . An manchen Stellen lagen sie dicht bei dicht. Der Inhalt dieser Fortsätze ist arm an Zellorganellen. Die Form der Fortsätze ist unterschiedlich, sie ist länglich oval aber auch minunter gelappt. Die Zellmembranen zeichnen sich relativ deutlich ab. Diese Membranen lassen bei stärkerer Vergrößerung drei Bezirke

erkennen. Die äußere und die innere Schicht sind elektronenoptisch dunkler, die mittlere Schicht heller. Die Zellmembran weist an der Oberfläche kleine Einbuchtungen und Ausstülpungen auf. Die exakte Kontinuität der Zellmembran ist nicht an allen Stellen erhalten. Auch bei der Auflage der Zellen auf der Glaskörperrinde fehlt teilweise eine scharfe Abzeichnung. Zellfortsätze und Rinde sind hier breitbasig miteinander "verlötet". Im locker strukturierten Zytoplasma der Zellfortsätze finden sich in unregelmäßiger Verteilung einzelne Mitochondrien und mitunter auch Profile des endoplasmatischen Retikulums. Stellenweise sieht man kontrastreiche, homogene rundliche Gebilde, die zum Teil Granula enthalten. (Abb. 2 u. Abb. 3)

Die meisten Zellfortsätze der Hyalocyten schmiegen sich eng an eine Lamelle, die sich als äußerste Schicht der Rinde darstellen läßt. Ihre Dicke beträgt 30-40m μ . Bei höherer Vergrößerung (70.000-100.000) lassen sich in dieser Membran 40 $\text{\AA}$ dicke Granula feststellen, die sich mit Rutheniumrot anfärben. Zur Glaskörperrinde zählt man noch eine weitere 2 μ dicke Schicht von Glaskörperfibrillen, die im wesentlichen parallel zur freien Oberfläche orientiert sind. In einem Sektor liegen hier 5-9 Fibrillen. Der Interfibrillärraum, als Raum zwischen den Fibrillen, hat einen geringen Durchmesser von 150 bis 225m μ . Die Fibrillen sind nicht glatt beziehungsweise nackt, sondern maskiert von Granula. Diese liegen

dicht bei dicht als Verband gewunden um die Fibrille. Solche Rutheniumrot-anfärbbare Bänder liegen wie Girlanden um die Fibrillen herum. Die Dicke solcher Girlanden und die darin maskierte Fibrille schwankt zwischen 40 und 60m μ . (Abb. 4)

Der zentrale Teil des Glaskörpers enthält viele Fibrillen, die aber statistisch verteilt sind. Die Fibrillen liegen damit ungeordnet und in unterschiedlichen Richtungen im Interfibrillärraum. Man erkennt Quer-, Längs- und teilweise Diagonalschnitte der Fibrillen. Der Abstand zwischen den einzelnen Fibrillen schwankt zwischen 400 und 900m μ . Der Interfibrillärraum enthält hier außerdem viele kleine, mit Rutheniumrot gefärbte Granula, die einen Durchmesser von 7m μ haben. Diese Granula finden sich auch in regelmäßigen Abständen von 25 bis 35m μ zu Fünferketten angeordnet. Ebenso wie in der Basalmembran sind auch hier die Fibrillen mit Rutheniumrot angefärbten Granula bedeckt, die sich wie eine Girlande um die Fibrille winden. Der Abstand zwischen den einzelnen Windungen beträgt 30m μ mit geringen Schwankungen. An einigen Stellen fehlt die Maskierung der Fibrille, so daß man die glatte Fibrille messen kann. Sie hat einen Durchmesser von 15m μ . (Abb. 5)

Eine Periode konnten wir nicht feststellen.

Abb. 1:

Schnitt durch den Glaskörper des Pferdes. Zell-
fortsätze. Rinde und Pars centralis des Glaskör-
pers. Übersichtsbild. Rutheniumrot.

Vergr.: 7.500 : 1.

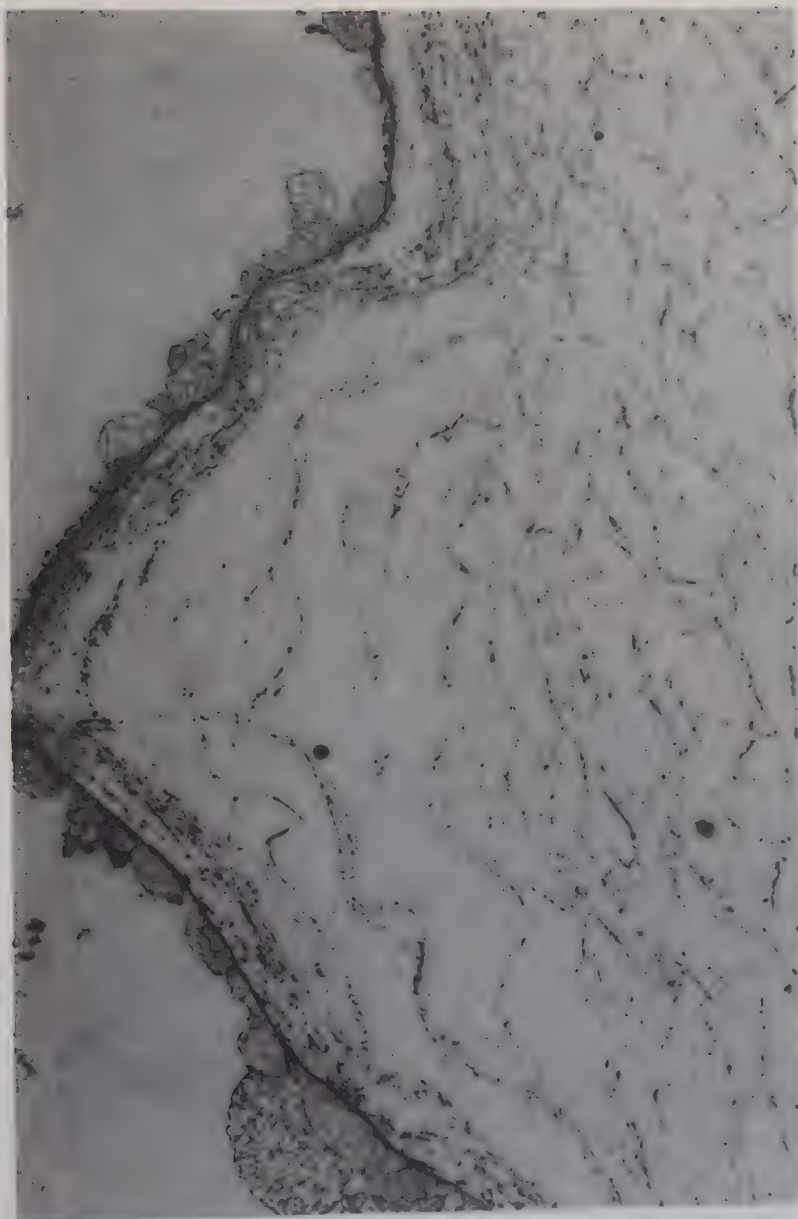


Abb. 2:

Zellfortsätze stärker vergrößert. Basallamelle an
der Oberfläche des Glaskörpers. Rutheniumrot.

Vergr.: 105.000 : 1.



Abb. 3:

Zellfortsätze. Basallamelle im Flachschnitt.

Rutheniumrot.

Vergr.: 70.000 : 1.

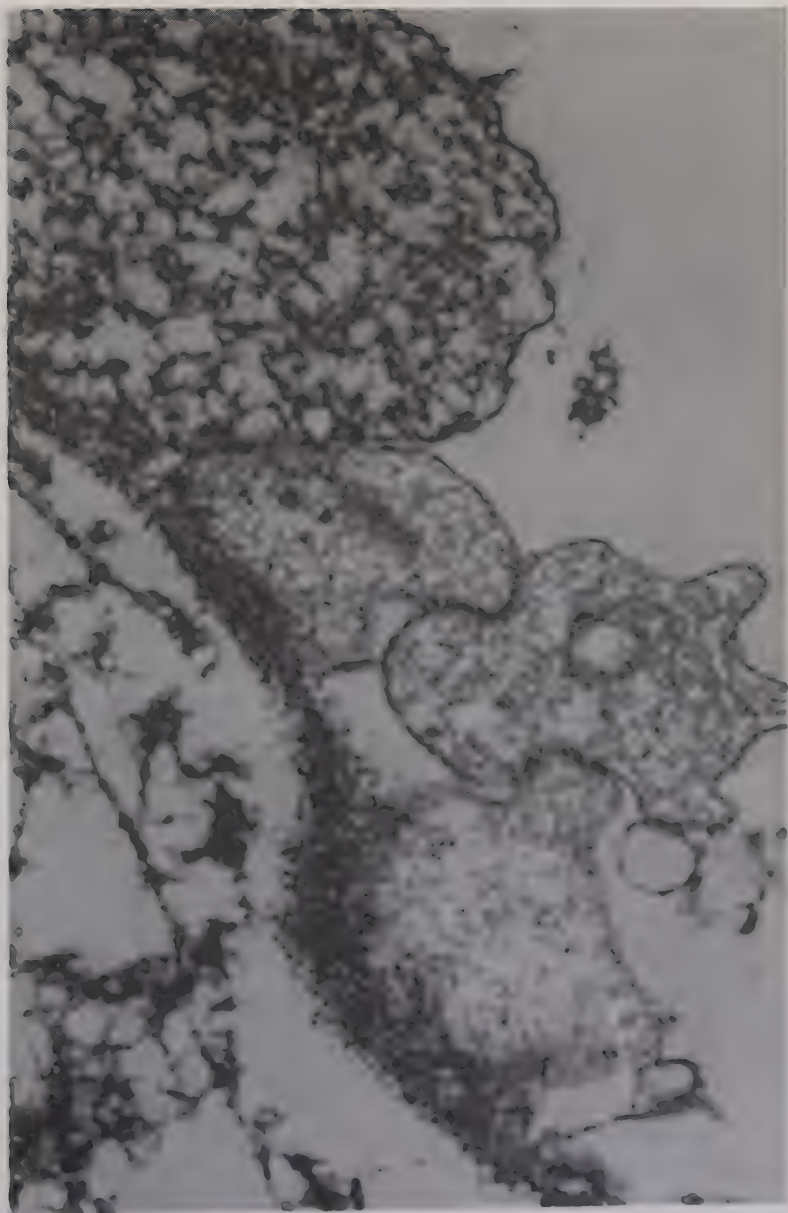


Abb. 4:

Zellfortsätze. Basallamelle. Rinde. Rutheniumrot.

Vergr.: 70.000 : 1.

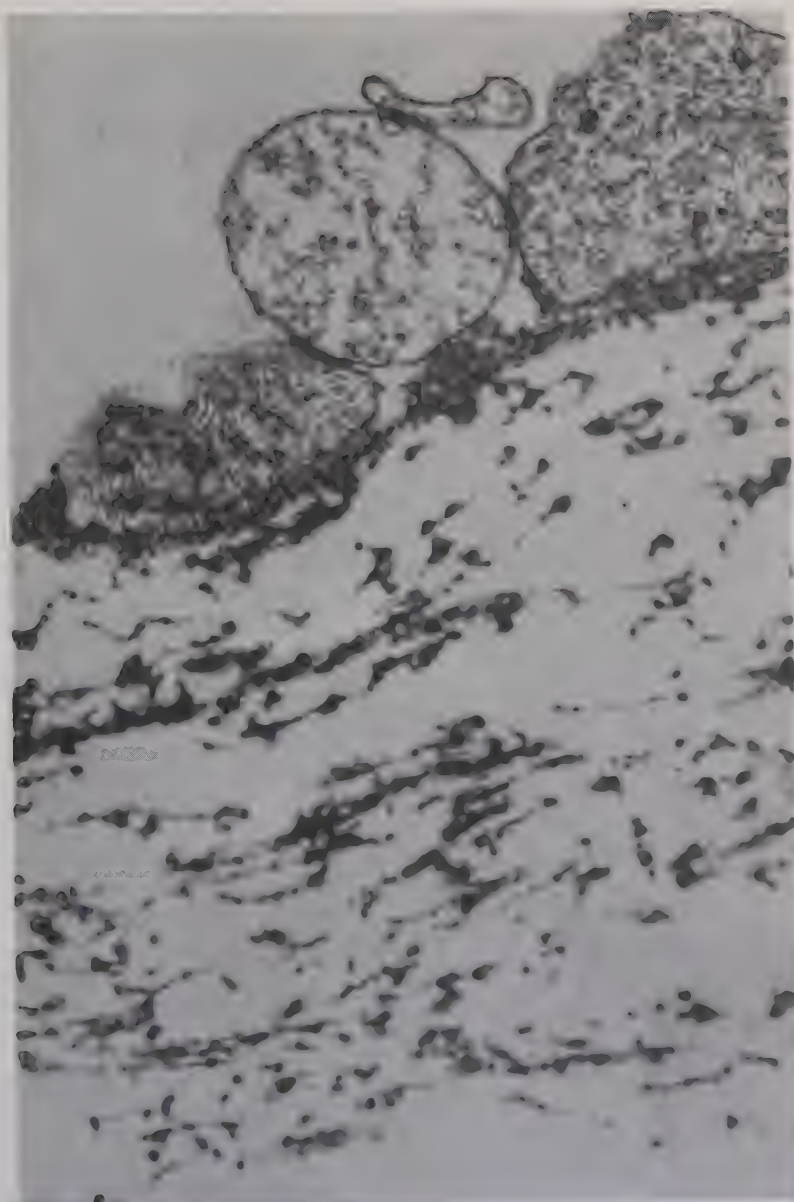
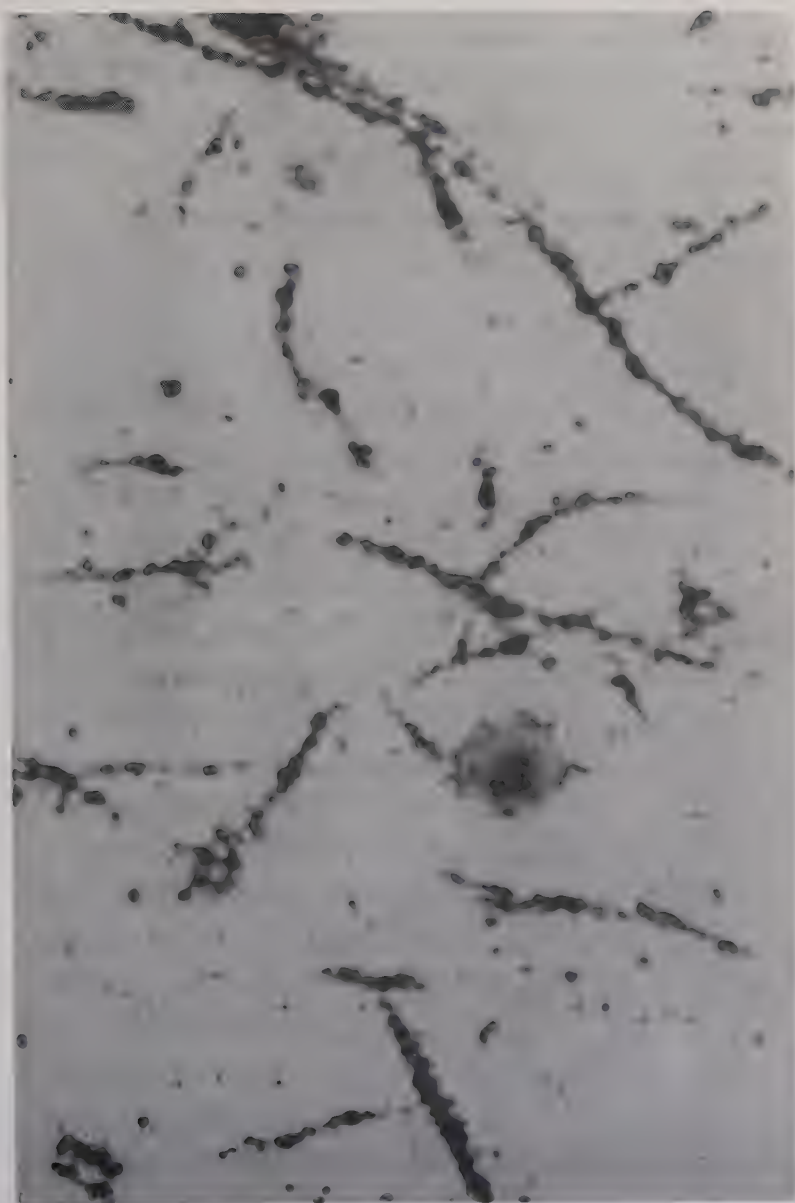


Abb. 5:

Pars centralis des Glaskörpers. Fibrillen und hochpolymere Hyaluronsäure. Rutheniumrot.

Vergr.: 75.900 : 1.



IV. DISKUSSION

Bei der zusammenfassenden Beurteilung der Ergebnisse sind es vor allem zwei Komplexe von Befunden, die die Besonderheit im Glaskörper ausmachen: die Fibrillen (Kollagen) und die Hyaluronsäure. Beide Substanzen werden von Zellen an der Oberfläche des Glaskörpers produziert.

Die Natur der elektronenoptisch sichtbaren Glaskörperfibrillen wurde mit Hilfe von fermentativen Abbaubersuchen und chemischen Analysen an Glaskörpermaterial untersucht, das durch Zentrifugieren oder Membranfiltration angereichert worden war (NECKEL, 1953). Hierbei stellte sich heraus, daß die Hyaluronsäure sich mindestens zum größten Teil außerhalb der Glaskörperfibrillen befindet. Durch Membranfilter ließ sie sich teilweise filtrieren; im Zentrifugationssediment, welches zum erheblichen Teil aus Fibrillen bestand, befand sich sehr wenig Hexosamin (Bestandteil der Hyaluronsäure); nach weitergehenden Abbau der Hyaluronsäure mittels Hyaluronidase blieben die Fibrillen erhalten. Die Zentrifugationssedimente bestanden aus einem Protein mit hohem Kohlensäuregehalt, somit war auf die Proteinnatur der Fibrille zu schließen. Die Ähnlichkeit der Papierchromatogramme von Gelatine, Glaskörperfiltrationsrückstand und -sediment bestätigen die chemische Verwandtschaft der Glaskörperfibrillen mit kollagenen Fibrillen (NECKEL, 1953). Diese Er-

gebnisse stimmten mit Untersuchungen von PIRIE, SCHMIDT und WATERS (1948) überein. Sie extrahierten Glaskörper in Kochsalzlösung und fanden heraus, daß sich der Rückstand röntgenologisch und quellungsmäßig kollagen-ähnlich verhielt.

Die Grundbausteine der kollagenen Fibrille im Corpus vitreum sind also Proteine. Die Synthese läuft in den Ribosomen des rauhen endoplasmatischen Retikulums der Hyalocyten ab. Die wachsenden kollagenen Polypeptidketten gelangen dabei in die Hohlräume des Zellorganelles. Von hier aus wird das Syntheseprodukt Kollagen durch einen Vesikelfluß in den Golgi-Apparat transportiert. Dort erfolgt die Abpackung in Sekretgranula, die dann zur Zellmembran gelangen und ihren Inhalt nach außen abgeben. Das Grundmolekül des Kollagens besteht aus drei, je etwa 100 Aminosäuren langen Polypeptidketten von unterschiedlicher, aber homologer Aminosäuresequenz, die zu einer Tripelhelix miteinander verdrillt sind. Bei dieser Primärstruktur des Kollagens (Tropokollagen) wird von der Aminosäuresequenz ausgegangen. Der Aufbau zum quartär-formierten Kollagen vollzieht sich zum größten Teil außerhalb der Hyalocyten, wobei die Mukopolysaccharide und somit die Hyaluronsäure in der Rinde und im Interfibrillärraum wahrscheinlich maßgeblichen Einfluß in Bezug auf Dicke und Struktur der Fibrillen haben. Die unmittelbare Beziehung der Hyalocyten zur Rindenschicht im Glaskörper erklärt hier die

stärkere Dichte der Fibrillen in der Rinde des Glaskörpers. Der Interfibrillärraum beträgt nur 150-225 μ . Der zentrale Teil des Corpus vitreum macht aber die Hauptmasse aus. Der Abstand zwischen den einzelnen Fibrillen schwankt hier zwischen 400 und 900 μ , er ist also wesentlich weiter im Vergleich zur Rinde. Die Dicke der "nackten" Fibrille beträgt 15 μ . Eine Zuordnung des Fibrillenkollagens zu einem besonderen Typ ist bis jetzt nicht möglich. In Betracht käme hier der Typ II oder der Typ III (Hyaliner Knorpel und Gefäßwände). In diesen Befunden - geringer, gleichmäßiger Durchmesser der Fibrillen und relativ regelmäßiger weiterer Fibrillenabstand - liegt mit die Erklärung für die Durchsichtigkeit des Glaskörpers. Auch die Propria der Säugetiercornea hat diese Merkmale. Wie jedes tierische Bindegewebe besteht die Cornea aus kollagenen Fibrillen und Kittsubstanz. Die Zellen sollen dabei bewußt vernachlässigt werden. Während im zugfesten, undurchsichtigen Sehnenkollagen dicke Fibrillen mit sehr wenig Kittsubstanz gefunden werden, sieht man in der Cornea sehr dünne Fibrillen und reichlich Kittsubstanz, die einen relativ großen Anteil saurer Mukopolysaccharide enthält. SCHWARZ hat dieses morphologisch inhomogene System als optisch homogen betrachtet und den Fibrillen und der Kittsubstanz einen fast gleichen Brechungsindex zugeordnet (1953). Berechnungen der Brechungsindices der isolierten Bestandteile (MAURICE, 1957) haben jedoch ergeben, daß das anatomisch inhomogene Gewebe auch

optisch etwas inhomogen ist. Faßt man jedoch die Propria der Cornea als eine kolloidale Lösung mit zwei Komponenten verschiedener Brechungsindices auf - wie CASPERSSON und ENGSTRÖM es getan haben (1945) - scheint dies auch auf den Pars centralis des Corpus vitreum zutreffend zu sein. Die Fibrillen würden demnach der dispersen Phase (gelöste Partikel) und die Kittsubstanz dem Dispersionsmittel entsprechen. Wie bei der Cornea liegt auch beim Glaskörper des Pferdes der Fibrillendurchmesser in der Rindenschicht und im Pars centralis unter ca. $1/20$ der Wellenlänge des Lichtes. Die Fibrillen können als sogenannte kleine Partikel angesehen werden, die bei Lichteinfall als Dipole in Phase schwingen. Auch ist die Intensität der Streustrahlung umso geringer, je kleiner die Partikel sind (WIEGNER und PALLMANN, 1948).

Die Hyaluronsäure zeichnet sich durch großes Wasserbindungsvermögen aus, so daß der größte Teil des Glaskörpers Wasser ist. Viele Untersucher haben auch den hohen Wassergehalt für die Durchsichtigkeit des Glaskörpers verantwortlich gemacht. Die Hyaluronsäure wird wie die kollagenen Fibrillen in den Hyalocyten gebildet und in den Glaskörper abgegeben. Sie befindet sich hierbei in einer niedrigen Polymerisationsstufe möglicherweise als Monomer. Auf dem Weg durch die Glaskörperrinde zum Pars centralis wird sie mittels Transferasen weiter polymerisiert.

Zwischen den Fibrillen und dem freien Raum färbt

sich ein Teil des Schnittes ebenfalls mit Rutheniumrot an, so daß diese Teile der Hyaluronsäure im Elektronenmikroskop sichtbar werden. Es kann sich aber nicht um das Monomer handeln, da das Molekül unter der der Sichtbarkeit des Elektronenmikroskops liegt. Hier muß es sich schon um eine höhere Polymerisationsstufe handeln, die wahrscheinlich durch Polymerasen aus dem Monomer erreicht wird (ÖSTERLIN und JACOBSON, 1968). Solche Polymerasen werden auch von den Hyalocyten produziert und in den Glaskörper abgegeben, wie BALAZS (1962, 1968) nachweisen konnte. Diese Polymerisationsstufe wurde von SCHWARZ (1956) als Oligomer bezeichnet. Als nächsthöhere "Polymerisationsstufe" läßt sich die Anordnung von Oligomer zu Fünferketten vermuten. Die weitere Polymerisation geschieht unter dem Einfluß der kollagenen Fibrillen. Die höchste polymere Stufe liegt wie eine Girlande eng um die Fibrillen gewickelt. Diese Polymerisationsstufe wurde von SCHWARZ als "Hochpolymer" bezeichnet. Fibrillen und hochpolymere Hyaluronsäure bilden eine stabile Verbindung, so daß der Interfibrillärraum für das Oligomer frei bleibt. Dies ist für Fluß und Diffusion löslicher Komponenten wie Aminosäuren von hinten nach vorn in die Augenkammer besonders wichtig.

Die in der Literatur angegebenen Molekulargewichte der Hyaluronsäure im Glaskörper des Auges lassen sich leicht durch den morphologischen Befund erklären. Durch

die verschiedenen Polymerisationsstufen kommt es zu so unterschiedlichen Ergebnissen.

Die hochpolymere Form der Hyaluronsäure ist beim Pferd besonders gut ausgebildet. Hier liegt die Erklärung dafür, daß die Galerte des Glaskörpers nach der Herausnahme aus dem Pferdeauge relativ fest ist und nicht auseinanderfließt. Diese Verhältnisse erinnern an die Galerte des Glaskörpers beim Rinderauge. Durch das hohe Wasserbindungsvermögen reicht die geringe Menge der Hyaluronsäure aus, damit eine Galerte entstehen kann. BALAZS hat in einem Modell seine Vorstellungen über so ein biologisches Gel mehrmals veröffentlicht (1961, 1969). In diesem Modell sind die kollagenen Fibrillen "nackt" und die Hyaluronsäuremoleküle liegen zwischen den Fibrillen. Durch ihr großes Wasserbindungsvermögen stark gequollen, drücken sie von allen Seiten auf die Fibrillen, daß die Galerte, wenn man sie herausnimmt, steht und nicht zerfließt. Unsere Untersuchungen haben aber ergeben, daß die hochpolymere Stufe der Hyaluronsäure um die Fibrillen herumgewickelt ist. Diese Girlanden von hochpolymerer Hyaluronsäure um die Fibrillen fließen an manchen Stellen zusammen und bewirken damit die Steifigkeit des Gels. Die Stabilität des Corpus vitreum wird zusätzlich durch das Fibrillengerüst im Inneren der hochpolymerisierten Hyaluronsäure verstärkt.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Der Glaskörper des Pferdes besteht aus einer relativ festen Galertkugel, die den Raum zwischen Linse und Retina ausfüllt. Die Natur des Corpus vitreum wird von zwei Komponenten bestimmt: den kollagenen Fibrillen und der stark hygroskopischen Hyaluronsäure. Beide Substanzen werden von Zellen an der Oberfläche des Glaskörpers produziert. Mit Hilfe der Anfärbung mit Rutheniumrot gelingt es die Zellen, die kollagenen Fibrillen und die Hyaluronsäure gleichzeitig darzustellen und in elektronenmikroskopischen Dünnschnitten zu untersuchen.

Die in der Form unterschiedlichen Querschnitte der Zellfortsätze der Hyalocyten haben einen Durchmesser von $100\mu - 2\mu$. Die Zellmembran weist an der Oberfläche vereinzelte Ausbuchtungen und Einstülpungen auf. Das Cytoplasma ist arm an Zellorganellen. Die Hyalocyten sind breitbasig mit der Glaskörperrinde verlötet. Zur Glaskörperrinde gehören zwei Schichten. Die äußere Schicht ist $30 - 40\mu$ dick und besteht aus vielen dicht bei dicht liegenden $40 \text{ \AA}$ dicken Granula, welche mit Rutheniumrot angefärbte Hyaluronsäuremakromoleküle darstellen. Die 2μ dicke innere Schicht enthält Glaskörperfibrillen, die parallel zur freien Oberfläche orientiert sind. Die Fibrillen, die nackt einen Querschnitt von 15μ aufweisen, sind mit Girlanden von Granula maskiert, die die hochpolymerisierte Form der Hyaluronsäure dar-

stellen. Der Interfibrillärraum hat einen Durchmesser von 150-225 μ . Im zentralen Teil des Glaskörpers, der die Hauptmasse ausmacht, sind die Fibrillen statistisch verteilt. Ihr Abstand beträgt 400-900 μ . Die Fibrillen sind hier ebenso wie in der Glaskörperrinde maskiert. Der Interfibrillärraum enthält 7 μ dicke Granula, die das Oligomer der Hyaluronsäure darstellen. Diese Granula finden sich auch in regelmäßigen Abständen zu Fünferketten angeordnet; sie repräsentieren die Zwischenstufe der Hyaluronsäure vom Oligomer zum Polymer. Die hochpolymere Form der Hyaluronsäure liegt als Girlande um die Fibrillen. Sie ist für die Konsistenz des Glaskörpers als relativ festes Gel verantwortlich.

Die Befunde wurden unter folgenden Gesichtspunkten diskutiert:

- 1) Funktion der Hyalocyten.
- 2) Aufbau und Anordnung der kollagenen Fibrillen unter Berücksichtigung der Transparenz des Glaskörpers.
- 3) Entwicklung der Hyaluronsäure vom Monomer zum Polymer unter Berücksichtigung der Stabilität des Glaskörpers.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- Baurmann, M.: Untersuchungen über die Struktur des Glaskörpers bei Säugetieren. Graefes Arch. 111 (1923)
- Balazs, E. A.: Molecular morphology of the vitreous body.
In: The structure of the eye G.K. Smelser, ed.
S. 293-310, New York: Academic Press 1961
- Balazs, E. A.: Die Mikrostruktur und Chemie des Glaskörpers. In: Deutsche Ophthal. Gesellsch. Bericht über die 68. Zusammenkunft (1969)
- Balazs, E.A. und Jeanloz, R.W.: In: The Amino Sugars.
Vol. 2A. S. 401-460. Academic Press, New York and London (1965)
- Blackstad, F.W., Wegge, F.: On the ultrastructure of vitreous body filaments. Acta ophthal. (Kbh.) 39, 37-53 (1961)
- Blumberg, B.S. und Ogston, A.G.: In: Chemistry and Biology of Mucopolysaccharids. (G.E.W. Wolstenholme and M. O'Conner, eds.) S. 22-41. Churchill, London
- Casperson, T. u. A. Engström: Transparenz des Hornhautgewebes. Nord.Med. 30, 1279-1282 (1946)
- Duke-Elder, W.S.: The structure and properties of the vitreous body. Tran. Ophthalm. Soc.U.Kingd. 49 (1929)
- Gärtner, J.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Feinstruktur der normalen und pathologisch veränderten vitreoretinalen Grenzschicht. Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal. 165, 71-102 (1962)

- Gärtner, J.: Die Feinstruktur der Glaskörperrinde des menschlichen Auges an der Ora serrata im Alter. Albrechts v. Graefes Arch.klin.exp.Ophthalm. 168, 529-562 (1965)
- Gärtner, J.: Beziehung zwischen Fundusdiagnostik und Elektronenmikroskopie, dargestellt am Beispiel der Glaskörperrinde in der Ora-serrata-Gegend. Mod. Probl.Ophthalm., Vol. 5, 154-169. Basel-New York: Karger 1967
- Grignolo, A.: Les connaissances actuelles sur la structure du corps vitre. Progr. d'ophthal. 2, 1-35 (1953)
- Gross, J., Matolsty, A.G., Cohen, C.: Vitrosin: A member of the collagen class. J. biophys.biochem.Cytol. 1, 215-220 (1955)
- Hanson, H.A.: Scanning electron microscopy of the vitreous body in the rat eye. Z.Zellforsch. 101, 323-337 (1969)
- Laurent, T.C.: Studies on hyaluronic acid in the vitreous body. J. biol.Chem. 215, 263-271 (1955)
- Laurent, T.C.: In: Chemistry and molecular biology of the intercellular matrix (e.A. Balazs, ed.) Vol. 2, 703-731. London and New York: Academic Press 1970
- Laurent, T.C. and Gergely, J.: J. biol.Chem. 212, 325 (1955)

- Luft, J.H.: Ruthenium-red and violet . I. Chemistry
purification, methods of use for electron micro-
scopy and mechanism of action. Anat.Rec. 171,
347-368 (1971)
- Luft, J.H.: Ruthenium-red and violet. II. Fine structural
localisation in animal tissues. Anat.Rec. 171,
369-391 (1971)
- Maurice, D.M.: The structure and transparency of the
cornea. J. Physiol. (London) 136, 263-286 (1957)
- Meyer, K., Palmer, J.W.: The polysaccharide of vitreous
humor. J. biol.Chem. 107, 629-638 (1934)
- Meyer, K., Smith, E.M., Gallardo, E.: On glycoproteins,
polysaccharids of the vitreous humor and umbili-
cat cord. J. biol.Chem. 114, 689-703 (1936)
- Neckel, J.: Chemische Untersuchungen über die elektronen-
mikroskopisch sichtbaren Glaskörperfibrillen.
Z. Naturforsch. 8b, 236-243 (1953)
- Österlin, S.E., Jacobson, B.: The synthesis of hyaluro-
nic acid in vitreous. I. Soluble and particulate
transferases in hyalocytes. Exp. Eye Res. 7,
497-510 (1968)
- Pirie, A., Schmidt, G., Waters, W.: Ox vitreous humor.
I. The residual protein. Brith. J. Ophthal. 32,
321-339 (1948)
- Rogers, H.J.: In: The biochemistry of Mucopolysaccharides
of Connective Tissue, Biochem.Soc.Symp.No. 20
(F. Clark and J.K. Grant, eds.), 51-78. Cambridge
University Press, London

- Schuchardt, E., Knoch, M.: Elektronenmikroskopische Befunde am Glaskörper des Auges. Naturwissenschaften 37, 426 (1950)
- Schwarz, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Glaskörperstrukturen im Rinderauge. Z.Zellforsch. 36, 45-61 (1951)
- Schwarz, W.: Die Gelkörperfibrillen des menschlichen Glaskörpers. Z.Zellforsch. 36, 284-292 (1951)
- Schwarz, W.: Electron microscopic observations of the human vitreous body. In: The structure of the eye (G.K. Smelser, ed.) 283-291. New York: Academic Press 1961
- Schwarz, W.: Electron Microscopic Study on the Gel of the Central Part of the Corpus Vitreum in the Ox. Cell Tiss.Res. 168, 271-275 (1976)
- Schwarz, W., Ruska, H.: Über die Faserstrukturen im Glaskörper und in der Linse des Säugetierauges. Optik 7, 318 (1950)
- Weissmann, B., Meyer, K.: J.Am.chem.Soc. 76, 1753 (1954)
- Wiegner, G. und Pallmann, H.: Kolloidchemisches Taschenbuch (Hrsg. A. Kühn), S. 101 - Leipzig: Akadem. Verlagsgesellsch. (Geest u. Portig-K.G., 1948)
- Wolpers, C.: Kollagenquerstreifung und Grundsubstanz. Klin. Wschr. 22, 624-625 (1943)

Herrn Professor Dr. med. Schwarz möchte ich für die Überlassung des Themas und besonders für die mannigfaltige und freundliche Unterstützung bei der Durchführung dieser Dissertation meinen Dank aussprechen.

LEBENS LAUF

Am 30.3.1945 wurde ich als vierte Tochter des Arztes Dr. med. Wolfgang Albert und seiner Ehefrau der Zahnärztin, Dr. med. dent. Annemarie Albert, geb. Rietschel, in Hildburghausen, Kreis Thüringen, geboren.

In Berlin besuchte ich die Grund- und Oberschule.

Vor dem Abitur war ich als Austauschschülerin ein Jahr in den Vereinigten Staaten. 1964 begann ich das Studium der Zahnheilkunde an der Freien Universität Berlin.

Hier bestand ich 1967 die Zahnärztliche Vorprüfung und 1971 das Staatsexamen. Ich bin jetzt halbtags in eigener Praxis tätig.

